



卵巣明細胞腺癌における治療標的分子としてのプラスミノーゲン活性化抑制因子PAI-1 に関する検討

著者	増子 さつき
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3187号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58054

氏 名	ましこ さつき 増子 さつき
学 位 の 種 類	博士 (医 学)
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	卵巣明細胞腺癌における治療標的分子としてのプラスミノゲン活性化抑制因子 PAI-1 に関する検討
論文審査委員	主査 教授 八重樫 伸生 教授 石井 直人 教授 菅原 準一

論文内容要旨

[目的]卵巣明細胞腺癌は欧米では発生頻度が少ないのに対し、本邦で増加傾向にある疾患で、標準的な化学療法が奏功にくい腫瘍である。さらに、血栓症発症率が他の上皮性卵巣癌に比べて高いことが知られている。PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor -1 ; プラスミノゲン活性化抑制因子) は線溶系の阻害因子であり、PAI-1 高発現は血栓症発症と関わっている。新規 PAI-1 阻害剤 TM5275 は血栓症予防目的で臨床試験を目指し開発中である。また乳癌などを含む複数種の癌において PAI-1 発現は予後不良と相関することが報告されている。本研究では、卵巣明細胞腺癌における PAI-1 の治療標的分子としての可能性を探索した。

[方法]公開されている卵巣癌マイクロアレイデータベースを用いて、卵巣癌組織における PAI-1 発現と予後との関連性について Kaplan-Meier 法による生存曲線により解析した。東北大学病院産婦人科で手術を施行した卵巣癌標本を用いて、卵巣癌での PAI-1 発現を免疫組織化学により検出した。次に卵巣明細胞腺癌細胞株 6 株での PAI-1 の発現をウェスタンブロッティング法により検出した。PAI-1 の細胞増殖への関与を検討するために、small interference RNA (siRNA) および低分子 PAI-1 阻害剤 TM5275 を用いた。細胞増殖は CellTiter-Glo™ Luminescence Cell Viability Assay キットを用いて測定した。細胞周期は細胞核蛍光染色色素 PI (propidium iodide) で染色し、フローサイトメーターにより解析した。アポトーシスは PARP の分解性減少、cleaved PARP の生成、および 蛍光標識 Annexin V 染色によりアポトーシスを検出した。

[結果] 公開マイクロアレイデータでは PAI-1 の高発現と卵巣癌の予後不良は有意に相関した。卵巣癌標本の PAI-1 の免疫組織染色法により明細胞腺癌では最も陽性例が多く、さらに腫瘍細胞の細胞質に高発現していた。統計学的解析により、漿液性腺癌および正常卵巣に比して明細胞腺癌の陽性例は有意に多いことが明らかとなった。種々のヒト卵巣明細胞腺癌細胞株での PAI-1 発現を比較検討したところ、PAI-1 は ES-2 および JHOC-9 細胞株において高発現しており、一方 SKOV3、JHOC-7、JHOC-8 および JHOC-9 細胞株では発現は低かった。PAI-1 の細胞増殖への関与を明らかにするために、PAI-1 siRNA または PAI-1 阻害剤を用いて PAI-1 発現または活性を抑えたところ、細胞増殖は有意に抑制された。本抑制効果は PAI-1 高発現細胞において顕著だった。さらに、これらの細胞の細胞周期およびアポトーシスを調べた結果、PAI-1 ノックダウン細胞または PAI-1 阻害剤処理した細胞のいずれにおいても、G2/M 期での細胞周期の停止およびアポトーシス誘導が検出された。

(書式 1 2)

[結論] PAI-1 発現は卵巣癌患者予後の悪化予測因子として考えられ、また本邦においては卵巣癌組織学的分類上 PAI-1 は明細胞腺癌に高発現していることが明らかとなった。さらに、卵巣明細胞腺癌細胞において PAI-1 は細胞周期の進行に関与することで細胞増殖に寄与することが示唆された。これらより、PAI-1 分子を標的にした新しい卵巣癌治療戦略の構築が期待される。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 卵巣明細胞腺癌における治療標的分子としてのプラスミノゲン活性化抑制因子
PAI-1 に関する検討

所属専攻・分野名 医科学専攻 婦人科学 分野

氏名 増子 さつき

卵巣明細胞腺癌は欧米では発生頻度が少ないのに対し、本邦で増加傾向にある疾患で、標準的な化学療法が奏功しにくい腫瘍である。さらに、血栓症発症率が他の上皮性卵巣癌に比べて高いことが知られている。PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor -1; プラスミノゲン活性化抑制因子) は線溶系の阻害因子であり、PAI-1 高発現は血栓症発症と関わっている。本研究では、卵巣明細胞腺癌における PAI-1 の治療標的分子としての可能性を探索した。

本研究ではまず、公開されている卵巣癌マイクロアレイデータベースを用いて、卵巣癌組織における PAI-1 発現と予後との関連性について Kaplan-Meier 法による生存曲線により解析した。また、東北大学病院産婦人科で手術を施行した卵巣癌標本を用いて、卵巣癌での PAI-1 発現を免疫組織化学により検出した。次に卵巣明細胞腺癌細胞株 6 株での PAI-1 の発現をウェスタンブロッティング法により検出した。PAI-1 の細胞増殖への関与に着目し、small interference RNA (siRNA) および低分子 PAI-1 阻害剤を用いて細胞増殖、細胞周期、アポトーシス誘導について検討した。

本研究の結果では、公開マイクロアレイデータにおいて、PAI-1 の高発現と卵巣癌の予後不良は有意に相関した。また卵巣癌標本の PAI-1 の免疫組織染色法により、漿液性腺癌および正常卵巣に比して明細胞腺癌の陽性例は統計学的に有意に多いことが明らかとなった。PAI-1 の細胞増殖への関与を明らかにするために、PAI-1 siRNA または PAI-1 阻害剤を用いて PAI-1 発現または活性を抑えたところ、細胞増殖は有意に抑制された。本抑制効果は PAI-1 高発現細胞において顕著だった。さらに、これらの細胞の細胞周期およびアポトーシスを調べた結果、PAI-1 ノックダウン細胞または PAI-1 阻害剤処理した細胞のいずれにおいても、G2/M 期での細胞周期の停止およびアポトーシス誘導が検出された。

本研究は卵巣癌の予後と PAI-1 の発現に相関があることを見だし、また、明細胞腺癌細胞株を用いて、PAI-1 が細胞増殖と細胞死の制御に関与することを証明した。これらの知見は、PAI-1 分子を標的にした卵巣癌、特に明細胞腺癌の治療研究に寄与できるものと思われる。以上より、本研究は学位に十分値するものと判断される。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。